

Efecto de fitohormonas en la producción de biomasa, pigmentos, y proteínas por *Scenedesmus obliquus* cultivada en medio Bold Basal Modificado (BBM)

Brenda Yanin Azcárraga-Salinas ^{1,*}, María Myrna Solís-Oba ¹, Luis Carlos Fernández-Linares ², José Agustín Pacheco-Ortiz ¹, Annette Arisbeth Jiménez-Córdoba ¹, Andres Castro-Sierra ¹ y Javier Ruiz-Romero ¹

¹ Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA), Instituto Politécnico Nacional, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México

² Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI), Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México

* Autor de correspondencia: bazcarragas1900@alumno.ipn.mx

Energías Renovables (Biomasa)

Recibido: 13 de junio de 2025

Aceptado: 26 de julio de 2025

Publicado: 30 de enero de 2026

DOI: <https://doi.org/10.56845/terys.v5i1.528>

Resumen: En la actualidad la obtención de compuestos de valor agregado de una forma más sustentable es de suma importancia. Una alternativa es el cultivo de microalgas en medios de cultivo orgánicos a base de residuos. Estos contienen macro y micronutrientes útiles para las microalgas, además de fitohormonas. Las fitohormonas tienen efecto positivo en plantas y, en las microalgas, al tener un metabolismo similar, pueden resultar benéficas. En este sentido, conocer qué fitohormonas impactan en el crecimiento y producción de compuestos de interés es necesario. En este trabajo se evaluó el efecto de la adición exógena de 5 mg/L de 5 fitohormonas: ácido indol acético (IAA), ácido giberélico (GA), ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (AAS) y kinetina (KN) en medio bold basal modificado (BBM), comparando su efecto individual con el medio BBM sin adición de fitohormonas. La adición de ABA y KN tuvieron efecto significativo (Fisher LSD, $p < 0.05$) $n=2$. Se incrementó la producción de biomasa, clorofila a, b, pigmentos totales y proteínas, alrededor del 34% la producción de pigmentos totales y del 16.22% la producción de proteínas.

Palabras clave: biomasa, proteínas, fitohormonas, *Scenedesmus obliquus*

Effect of plant phytohormones on biomass, pigments, and protein production by *Scenedesmus obliquus* grown in Modified Bold Basal (BBM) medium

Abstract: Nowadays, obtaining value-added compounds in a more sustainable way is of utmost importance. An alternative is the cultivation of microalgae in organic waste-based culture media. These contain macro and micronutrients useful for microalgae, as well as phytohormones. Phytohormones have a positive effect on plants and, in microalgae, having a similar metabolism, they can be beneficial. In this sense, knowing which phytohormones impact the growth and production of compounds of interest is necessary. In this study, the effect of the exogenous addition of 5 mg/L of 5 phytohormones was evaluated: indole acetic acid (IAA), gibberellic acid (GA), abscisic acid (ABA), Salicylic acid (AAS) and kinetin (KN) in modified basal bold medium (BBM), comparing their individual effect with BBM medium without addition of phytohormones. The addition of ABA and KN had a significant effect (Fisher LSD, $p < 0.05$) $n=2$. The production of biomass, chlorophyll a, b, total pigments, and proteins increased, the production of total pigments by about 34% and the production of proteins by 16.22%.

Keywords: biomass, proteins, phytohormones, *Scenedesmus obliquus*

Introducción

En la actualidad, un desafío importante es el desarrollo de procesos más sustentables para la obtención de productos de valor agregado, como son los pigmentos y las proteínas. Donde se busca la disminución de la dependencia de fuentes convencionales que conlleven un alto impacto ambiental y costo en los ecosistemas. En este contexto, las microalgas son una fuente alternativa y renovable de compuestos de alto valor aplicables en diversas industrias como la alimentaria, cosmética o de biocombustibles (Balasubramaniam *et al.*, 2021), ejemplo de estos compuestos son los pigmentos y las proteínas.

Entre los pigmentos más utilizados está la clorofila, la cual tiene usos diversos, puede utilizarse como colorante natural y en la producción de cosméticos para el cuidado de la piel, además de que tiene beneficios a la salud como antiinflamatorio y agente antitumoral (Subramoniam *et al.*, 2012).

Las proteínas son un componente imprescindible en la dieta humana y animal. A pesar de los beneficios que las microalgas pueden ofrecer, su aprovechamiento a escala industrial aún presenta varios desafíos, como la optimización

de las condiciones y medios de cultivo para maximizar su crecimiento y con ello la producción de biomasa y compuestos de valor agregado (Mohamadnia *et al.*, 2021; Morowvat & Ghasemi, 2016; Verma *et al.*, 2020).

Respecto a la optimización de medios de cultivo para microalgas, hay reportes indicando el uso de medios de cultivo orgánicos no convencionales como el digestato o el té de vermicomposta, ya que estos contienen fitohormonas como el ácido indol acético (AIA), ácido giberélico (AG) o kinetina (KN) (Castro-Sierra *et al.*, 2024).

El uso de fitohormonas representa una valiosa herramienta, ya que su uso permite la inducción de respuestas metabólicas que permitan incrementar el contenido proteico y la biomasa, lo cual representa una alternativa para el uso eficiente de recursos y la valorización de la biomasa microalgal (Romanenko *et al.*, 2016).

El IAA estimula la división celular en microalgas, lo cual podría incrementar la producción de biomasa y clorofila cuando es aplicado en concentraciones adecuadas (Dao *et al.*, 2018). El AG y KN son citoquininas que favorece la división celular y el metabolismo fotosintético, lo cual se ha reportado que incrementa la producción de biomasa y pigmentos en microalgas como *Chlorella vulgaris* (Piotrowska & Czerpak, 2009) y *Dunaliella salina* (Mousavi *et al.*, 2016). El ABA es conocido por su rol en el estrés abiótico, porque induce la acumulación de lípidos en microalgas y el ácido salicílico a bajas concentraciones puede actuar como promotor de crecimiento, mientras que a concentraciones elevadas puede inducir estrés oxidativo y limitar el rendimiento metabólico (Wu *et al.*, 2018).

En este estudio se evaluó el efecto de cinco fitohormonas (ácido indol acético, ácido giberélico, ácido abscísico, ácido salicílico y kinetina) sobre el crecimiento, la producción de biomasa, pigmentos y proteínas de *Scenedesmus obliquus* crecida en BBM, con el objetivo de una posible aplicación biotecnológica sostenible a mayor escala con el uso de medios enriquecidos.

Materiales y Métodos

Materiales y reactivos

La microalga *Scenedesmus obliquus* fue donada del Laboratorio de Bioprocesos de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI) del Instituto Politécnico Nacional.

Las fitohormonas utilizadas fueron ácido indol acético (IAA) con 98% de pureza, marca Sigma-Aldrich, ácido abscísico (ABA), 98% de pureza, marca Sigma-Aldrich, ácido giberélico (GA), 90% de pureza, marca Caisson, Kinetina (KN), 99% de pureza, marca Caisson y ácido salicílico (AAS), pureza 99%, marca Sigma-Aldrich. El medio de cultivo bold basal modificado fue preparado y ajustado al pH de acuerdo con metodologías características (Bedane & Asfaw, 2023).

Cultivo

El cultivo de la microalga *Scenedesmus obliquus* se llevó a cabo con fotoperiodo luz: oscuridad (14:10), temperatura (25°C), intensidad luminosa (3000 luxes) durante 12 días. El preinóculo fue del 10% del volumen total del medio de cultivo ajustado a una densidad óptica de 0.8. Las fitohormonas evaluadas se adicionaron a cada tratamiento a una concentración de 5 mg/L. A los 6 días se analizó la biomasa en densidad óptica (600 nm), posteriormente a los 12 días de cultivo se analizó la producción de biomasa en peso seco y densidad óptica, el contenido de clorofila a, b, carotenoides, pigmentos totales y proteínas.

Cuantificación de pigmentos

Se centrifugó 1 mL de cultivo de microalgas a 13,000 rpm durante 5 minutos y se resuspende la pastilla celular con 1 mL de metanol, se coloca en baño maría a 60°C durante 10 minutos y se almacena por 24 h a 4°C en oscuridad, se centrifuga a 13,000 rpm durante 5 minutos y se lee la absorbancia del extracto en un espectrofotómetro uv-vis marca Thermo scientific® modelo Multiskan GO del extracto a 3 longitudes de onda: 470, 653 y 666 nm utilizando metanol como blanco (Wellburn, 1994).

Determinación de proteínas

Se centrifuga 1 mL de cultivo celular a 13,000 rpm por 5 minutos, se hidroliza la biomasa obtenida con 1 mL de NaOH 1 N o en baño maría en ebullición durante 2 horas, posteriormente se colocan 100 μ L del hidrolizado en celdas de plástico con 1 mL del reactivo de Bradford. Se mantiene la mezcla en reposo durante 10 minutos y se lee la absorbancia a 595 nm. Se calcula la concentración con una curva estándar de albúmina (0 a 300 mg/L, $r^2=0.99$) (Bradford, 1976).

Análisis estadístico

Se realizó un diseño completamente al azar y los resultados fueron evaluados mediante una prueba de Fisher LSD ($p < 0.05$) en el programa OriginLab. Todas las muestras fueron evaluadas por duplicado.

Resultados y Discusión

La producción de biomasa se vio influenciada por la adición de algunas fitohormonas. La cuantificación por densidad óptica refleja que a la mitad del cultivo (6 días) solo la adición de IAA mostró diferencias estadísticamente significativas respecto al cultivo en el control, medio bold basal modificado (BBM); sin embargo, posteriormente, al final del cultivo (12 días), la adición de las fitohormonas AIA, ABA y KN mostraron diferencias estadísticas respecto al control (Figura 1 a). Por otro lado, la producción de biomasa en peso seco no mostró diferencias estadísticamente significativas sino numéricas entre los tratamientos, siendo KN y ABA los tratamientos semejantes a BBM (Figura 1 b). En ambos casos, a los 12 días de cultivo, las fitohormonas ABA y KN tuvieron el mayor efecto en la producción de biomasa.

Reportes indican que 2 μ m de ABA incrementan hasta 2.1 veces la producción de biomasa por *Scenedesmus quadricauda* posterior a 48 horas de cultivo (Hirose et al., 2008). Así también se reportó un incremento en la densidad celular de la microalga *Tetraselmis suecica* en medio de cultivo suplementado con 15 mg/L de kinetina (Asghari et al., 2023).

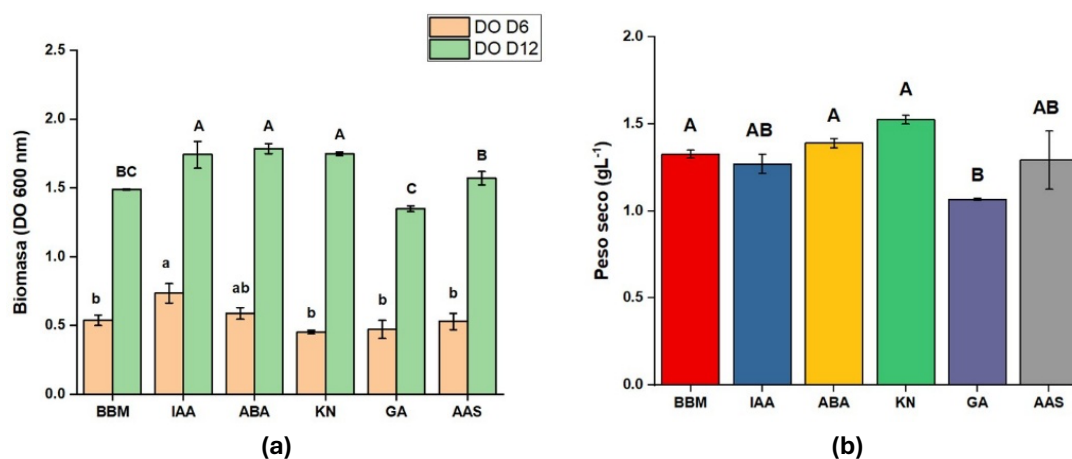


Figura 1. Producción de biomasa de *Scenedesmus obliquus* crecida en medio bold basal modificado (BBM) adicionado con diferentes fitohormonas ácido indol acético (AIA), ácido abscísico (ABA), kinetina (KN), ácido giberélico (GA) y ácido acetil salicílico (AAS): (a) cuantificación de biomasa al día 6 y 12 de cultivo por densidad óptica (600 nm) y (b) cuantificación de biomasa en peso seco al día 12 de cultivo. Las medias con literales iguales en las barras no presentan diferencias estadísticamente significativas (Fisher LSD, $p < 0.05$) $n=2$, se muestran las barras de error (SE)

La producción de pigmentos se vio influenciada por la adición de fitohormonas en el medio de cultivo, siendo ABA, KN y GA las fitohormonas que tuvieron mayor efecto en la producción de clorofila a, respecto a BBM, lo cual representó aproximadamente un 44% mayor producción de clorofila a en ABA, comparado con BBM. De forma similar, la producción de clorofila b fue favorecida por ABA, la cual tuvo valores estadísticamente significativos respecto a BBM, mientras que los tratamientos KN y GA no mostraron diferencias estadísticas, pero sí numéricas en la producción de este pigmento. La producción de carotenoides no tuvo diferencias estadísticas en los tratamientos, siendo el pigmento de menor producción (Figura 2 a). La producción de pigmentos totales fue más favorable para los tratamientos adicionados con ABA y KN, siendo de alrededor de un 34% mayor respecto a BBM (Figura 2 b).

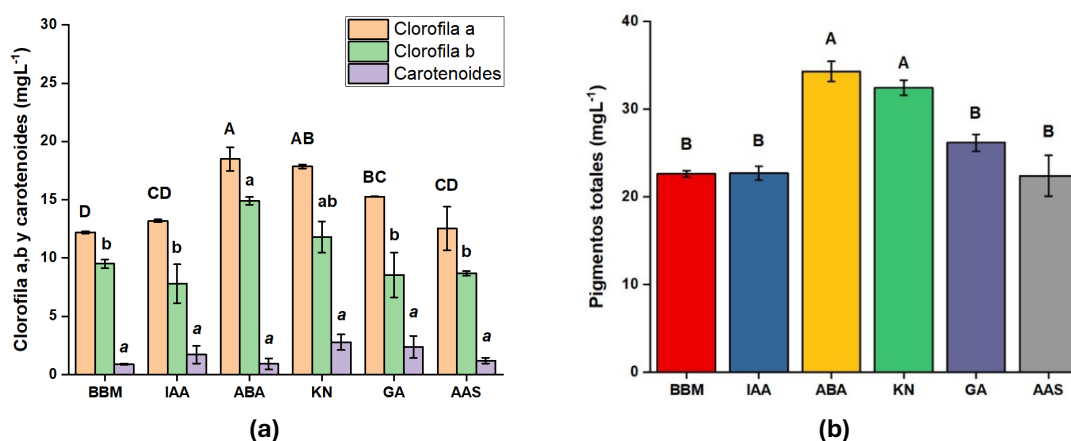


Figura 2. Producción de pigmentos de *Scenedesmus obliquus*: (a) producción de clorofila a, b y carotenoides y (b) producción de pigmentos totales. Las medias con literales iguales en las barras verticales no presentan diferencias estadísticamente significativas (Fisher LSD, $P < 0,05$). Barras de error (SE)

Estos resultados concuerdan con lo encontrado en el trabajo de Asghari *et al.*, (2023), donde el contenido de pigmentos y la actividad de enzimas como catalasa y super óxido dismutasa medidos después de 10 días, incrementaron significativamente en presencia de kinetina ($p < 0,05$) para el crecimiento de la microalga *Tetraselmis suecica*. Así también, ABA exógeno estimuló la división celular en la producción de biomasa, biosíntesis de clorofila, carotenoides y lípidos de la microalga *C. zofingiensis* en un experimento por lotes no aséptico (Kozlova *et al.*, 2023).

La producción de proteínas de igual forma se vio favorecida por las fitohormonas ABA y Kinetina, siendo su producción total de cerca de 100 mg/L, lo cual fue estadísticamente mayor ($p < 0,05$) que solo el medio BBM y la adición de las demás fitohormonas. Los tratamientos ABA y KN tuvieron una producción de aproximadamente 16.22% más de proteínas que el medio sin fitohormonas BBM. Trabajos reportan el efecto de distintas fitohormonas, entre ellas ABA a distintas concentraciones (0, 0.1, 0.5, 1, 10, 20 y 50 mg/L), en donde la concentración más alta de 50 mg/L de la adición de esta fitohormona tuvo un efecto estadísticamente significativo en la producción de proteínas, alcanzando producción de aproximadamente 25 mg/g de este compuesto (Du *et al.*, 2020).

El mecanismo de señalización de ABA está bien documentado en plantas, comienza cuando ABA se une a los receptores PYL, inhibe a PP2C y libera SnRK2, que fosforila TFs tipo AREB/bZIP, que fosforila genes de estrés, ROS y transcripción (Umezawa *et al.*, 2010). En microalgas se han reportado genes homólogos en *Chlamydomonas reinhardtii* y la producción de proteínas de defensa (Colina *et al.*, 2019). Por otro lado, KN es una citoquinina sintética. Las citoquininas tienen efecto en el incremento del número de células y la acumulación endógena de proteínas, clorofilas y monosacáridos en *Chlorella vulgaris*, ya que pueden estimular la transcripción de ARNr/ARNt y maquinaria ribosomal (Bajguz & Piotrowska-Niczyporuk, 2014).

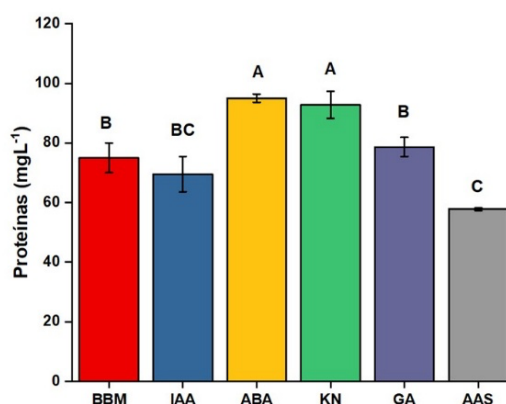


Figura 3. Efecto de la adición de fitohormonas en la producción de proteínas por *Scenedesmus obliquus*. Las medias con literales iguales en las barras no presentan diferencias estadísticamente significativas (Fisher LSD, $P < 0,05$), se muestran las barras de error (SE)

Conclusiones

Los tratamientos adicionados con 5 mg/L de las fitohormonas ABA y KN presentaron la mayor producción de biomasa en peso seco, producción de clorofila a, b y pigmentos totales. Esta información es importante ya que en medios de cultivo orgánicos contienen fitohormonas que pueden ser utilizados para el crecimiento de microalgas y a su vez la producción de compuestos de valor agregado de una forma más sustentable y con menor impacto ambiental. El estudio realizado solo fue evaluado en una única concentración de estas fitohormonas (5 mg/L). Como perspectiva se pretende evaluar otras concentraciones, ya que los posibles efectos pueden ser dosis-respuesta. Otra perspectiva es la evaluación en digestato y escalamiento en fotobiorreactor.

Agradecimientos y financiamiento: a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada 1003544. A la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) del Instituto Politécnico Nacional y a la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México (SECTEI) por el financiamiento para el desarrollo del presente proyecto.

Bibliografía

- Bajguz, A., & Piotrowska-Niczyporuk, A. (2014). Efecto interactivo de los brasinoesteroides y citoquininas sobre el crecimiento, la clorofila, el monosacárido y el contenido de proteínas en el alga verde *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 176-183. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.04.009>
- Balasubramaniam, V., Gunasegavan, R. D.-N., Mustar, S., Lee, J. C., & Mohd Noh, M. F. (2021). Isolation of industrial important bioactive compounds from microalgae. *Molecules*, 26(4), Article 4, <https://doi.org/10.3390/molecules26040943>
- Bedane, D. T., & Asfaw, S. L. (2023). Microalgae and co-culture for polishing pollutants of anaerobically treated agro-processing industry wastewater: the case of slaughterhouse. *Bioresources and Bioprocessing*, 10(1), 81, <https://doi.org/10.1186/s40643-023-00699-4>
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Castro-Sierra, A., Espinosa-Solares, T., Houbbron, E., Castro-Rivera, R., Azcárraga-Salinas, B. Y., & Solís-Oba, M. M. (2024). Production of phyto regulators during anaerobic digestion of bovine and swine manures. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 23(3), <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio24289>
- Colina, F., Amaral, J., Carbó, M., Pinto, G., Soares, A., Cañal, M. J., & Valledor, L. (2019). Genome-wide identification and characterization of CKIN/SnRK gene family in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Scientific Reports*, 9(1), 350. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35625-8>
- Dao, G.-H., Wu, G.-X., Wang, X.-X., Zhuang, L.-L., Zhang, T.-Y., & Hu, H.-Y. (2018). Enhanced growth and fatty acid accumulation of microalgae *Scenedesmus* sp. LX1 by two types of auxin. *Bioresource Technology*, 247, 561-567, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.079>
- Du, H., Ren, J., Li, Z., Zhang, H., Wang, K., Lin, B., Zheng, S., Zhao, C., Meng, C., & Gao, Z. (2020). Plant growth regulators affect biomass, protein, carotenoid, and lipid production in *Botryococcus braunii*. *Aquaculture International*, 28(3), 1319-1340, <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00528-x>
- Hirose, N., Takei, K., Kuroha, T., Kamada-Nobusada, T., Hayashi, H., & Sakakibara, H. (2008). Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *Journal of Experimental Botany*, 59(1), 75-83, <https://doi.org/10.1093/jxb/erm157>
- Kozlova, T. A., Kartashov, A. V., Zadneprovskaya, E., Krapivina, A., Zaytsev, P., Chivkunova, O. B., & Solovchenko, A. E. (2023). Effect of abscisic acid on growth, fatty acid profile, and pigment composition of the Chlorophyte *Chlorella* (*Chromochloris*) *zofingiensis* and its co-culture microbiome. *Life*, 13(2), Article 2, <https://doi.org/10.3390/life13020452>
- Mohamadnia, S., Tavakoli, O., & Faramarzi, M. A. (2021). Enhancing production of fucoxanthin by the optimization of culture media of the microalga *Tisochrysis lutea*. *Aquaculture*, 533, 736074, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736074>
- Morowvat, M. H., & Ghasemi, Y. (2016). Optimización del medio de cultivo para mejorar la producción de β -caroteno y biomasa por *Dunaliella salina* en cultivo mixotrófico. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 217-223, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.06.008>
- Mousavi, P., Morowvat, M., Montazeri-Najafabady, N., Abolhassanzadeh, Z., Mohagheghzadeh, A., Hamidi, M., Niazi, A., & Ghasemi, Y. (2016). Investigating the effects of phytohormones on growth and beta-carotene production in a naturally isolates stain of *Dunaliella salina*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 164-171, <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60826>
- Piotrowska, A., & Czerpak, R. (2009). Cellular response of light/dark-grown green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Chlorophyceae) to exogenous adenine- and phenylurea-type cytokinins. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3), 573-585, <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0267-y>
- Romanenko, K. O., Kosakovskaya, I. V., & Romanenko, P. O. (2016). Phytohormones of Microalgae: Biological Role and Involvement in the Regulation of Physiological Processes. *International Journal on Algae*, 18(2), <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v18.i2.70>
- Subramoniam A, Asha VV, Nair SA, Sasidharan SP, Sureshkumar PK, Rajendran KN, Karunakaran D, Ramalingam K (2012) Chlorophyll revisited: anti-inflammatory activities of chlorophyll a and inhibition of expression of TNF a gene by the same. *Inflammation* 35:959–966, <https://doi.org/10.1007/s10753-011-9399-0>
- Umezawa, T., Nakashima, K., Miyakawa, T., Kuromori, T., Tanokura, M., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2010). Molecular Basis of the Core Regulatory Network in ABA Responses: Sensing, Signaling and Transport. *Plant and Cell Physiology*, 51(11), 1821-1839. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq156>
- Verma, R., Kumari, K. V. L. K., Srivastava, A., & Kumar, A. (2020). Photoautotrophic, mixotrophic, and heterotrophic culture media optimization for enhanced microalgae production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 104149, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104149>
- Wellburn, A. R. (1994). Determinación espectral de clorofilas a y b, así como carotenoides totales, usando varios disolventes con espectrofotómetros de diferente. *Journal of Plant Physiology*, 144(3), 307-313, [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
- Wu, G., Gao, Z., Du, H., Lin, B., Yan, Y., Li, G., Guo, Y., Fu, S., Wei, G., Wang, M., Cui, M., & Meng, C. (2018). The effects of abscisic acid, salicylic acid and jasmonic acid on lipid accumulation in two freshwater *Chlorella* strains. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 64(1), 42-49, <https://doi.org/10.2323/jgam.2017.06.001>